静的ヘッドスペース GC-FID/MS を用いた医薬品残留溶媒分析の汎用メソッド

アプリケーション

製薬

著者

Karine Jacq、Frank David、
Pat Sandra
Research Institute for Chromatography,
Pres. Kennedypark 26, B-8500 Kortrijk,
Belgium

Matthew S. Klee
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

概要

医薬品中の残留溶媒の測定は、製薬業界の品質保証/品質管理 (QA/QC) における重要なガスクロマトグラフィ (GC) アプリケーションの 1 つです。通常、サンプル導入には静的ヘッドスペース (SHS) が用いられます。ルーチン QC には水素炎イオン化検出器 (FID) と組み合わせた GC が適している一方で、スクリーニングや同定には質量分析 (MS) が利用されます。本アプリケーションノートでは、1 回の分析で 50 以上の溶媒を分析できるリテンションタイムロック GC/MS/FID メソッドを紹介します。日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) で定められた 3 つのクラスの残留溶媒すべてを適切な濃度で同定および定量できるように、メソッドを最適化しました。

Agilent Technologies

はじめに

医薬品中の残留溶媒 (RS)(正式には揮発性有機不純物 (OVI) と呼ばれます) の測定は、製薬品質管理における最も重要なガスクロマトグラフィ (GC) アプリケーションです。近年、米国薬局方や欧州薬局方のメソッドが見直され、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) ガイドライン Q3C(R3) に準じて改訂されています [1]。

医薬品製造では、約 60 種類の溶媒が一般的に使われています。これらの溶媒の沸点や極性はさまざまです。ICH ガイドラインは、これらの溶媒を 3 つのクラスに分類しています。クラス 1 には、ベンゼン、四塩化炭素、1,1-ジクロロエタン、1,2-ジクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタンが含まれます。これらの溶媒は毒性を持つため、使用を避ける必要があります。クラス 2 は、クラス 1 より毒性は低いものの、使用を制限すべき溶媒です。クラス 1 とクラス 2 の溶媒は、人体への毒性が低いクラス 3 の溶媒に置き換えるのが望ましいとされます。これらの溶媒については、それぞれの相対的な毒性を考慮し、薬剤原料 (または医薬品有効成分 [API]) や製剤などの医薬品における濃度を監視する必要があります。監視すべき濃度は、ベンゼン (クラス 1) の 2 ppm (薬剤原料 2 µg/g) からクラス 3 溶媒の 0.05 % (w/w = 5,000 ppm) まで、多岐にわたります。そのため、医薬品残留溶媒の監視に使用する分析メソッドでも、こうした幅広い濃度に対応する必要があります。

一般に、残留溶媒の分析には、水素炎イオン化検出器を組み合わせたガスクロマトグラフィ (GC-FID) が用いられます。サンプル前処理および導入には、静的ヘッドスペースが使用されます [2]。この手法では、(たいていは) 揮発性溶媒を選択的に導入するため、分析システム (注入口、カラム、検出器) が不揮発性の薬剤原料や製剤により汚染されることはありません。分離にあたっては、厚膜の中極性カラム (G43 など) を選択します。定量には外部標準を使用します。

Agilent G1888 ヘッドスペースサンプラとAgilent 7890 GC とを組み合わせた分析では、低い検出下限 (LOD)、高い再現性、良好な直線性などの優れた定量データが得られます [3]。しかし、任意の溶媒に関する固有のリテンションタイムを保証するカラムが存在しないため、異なる固定相 (G16など) でコーティングしたキャピラリカラムを用いて、GC-FID による確認分析が実施されます。最近では、確認や同定の目的で GC/MS を使用できるようになっています [4,5]。

本アプリケーションノートでは、1 回の分析で 56 種類の溶媒を分析できるシステムコンフィグレーションと動作条件を説明します。ICH ガイドラインに記載された溶媒のなかには、(十分な) 揮発性がなく、SHS-GC 分析に適さないものもあります。ギ酸、酢酸、ジメチルスルホキシド (メソッド溶媒としてしばしば使用されます)、ホルムアミド、エチレングリコール、スルホランなどがそれにあたります。これらの不純物の分析には、他のメソッドを用いる必要があります。そうした分析については、ここでは説明していません。

ただし、ここで紹介するリテンションタイムロックメソッドは、ほとんどの溶媒に対応可能で、幅広い濃度の残留溶媒について同定 (MS を使用) と定量 (FID または MS あるいはその両方を使用) の両方を実施できることから、非常に汎用的なものと考えられます。

実験手法

サンプル前処理

一般に、医薬品残留溶媒の分析では、ジメチルスルホキシド (DMSO)、ジメチルアセトアミド (DMAC)、1,3-ジメチル- 2-イミダゾリジノン (DMI) などの低揮発性 (高沸点) 溶媒に薬剤原料または製剤を溶解します。水溶性薬剤原料の場合、水に溶解することもあります。本実験では、薬剤原料 100 mg を 2 mL の DMSO または DMSO/水 (1:1) に溶解しました。Sigma-Aldrich (NV/SA、ボーネン、ベルギー) から「GC ヘッドスペース」グレードの専用溶媒を入手しました。本実験では、GC-HS に適した DMSO (cat. no. 51779) を使用しました。

DMSO を用いて溶媒標準溶液を調製しました。クラス 1 溶媒の濃度は 15 µg/mL、クラス 2 およびクラス 3 溶媒の濃度は 600 µg/mL です。これらの原液から採取した 1〜100 µL を、2 mL DMSO/ 水 (1:1、v/v) とともに標準 20 mL HS バイアルに添加しました。標準物質の濃度は、つねに製剤または薬剤原料の µg/g で表されます。したがって、HS バイアル中で重量 100 mg の場合、これらの較正用溶液の濃度は、クラス 1 溶媒で 0.15〜5 ppm (µg/g drug)、クラス 2 およびクラス 3 溶媒で 6〜600 ppm になります (溶媒中の µg/mL で表される、バイアル中の実際の標準物質濃度は、その 20 分の 1 になります)。

機器条件

図 1 に示す SHS-GC-FID/MS コンフィグレーションを用いてサンプルを分析しました。静的ヘッドスペースには G1888 HSサンプラを使用しました。ヘッドスペースサンプラのトランスファーラインは、標準スプリット/スプリットレス注入口に接続しています。分離には DB-1301 カラムを使用しました。パージ付きスプリッタのキャピラリ・フロー・テクノロジー・デバイスを用いて、カラム溶出物を FID と MS (5975 MSD) にスプリットしました。AUX EPC チャンネルによりバイアル圧力を調節し、スプリッタのパージも、AUX EPC (第2チャンネル) により調節しました。63 cm × 内径 0.1 mm の不活性フューズドシリカキャピラリを用いて、スプリッタと MSD を接続しました。スプリッタと FID の接続には、40 cm × 内径 0.1 mm キャピラリを使用しました。両キャピラリの流量は約 1.4 mL/min で、リテンションタイムもよく一致します (FID および MS のリテンションタイム間で若干のオフセット)。分析パラメータと選択イオンモニタリング (SIM) パラメータを表 1 と表 2 に記載しています。

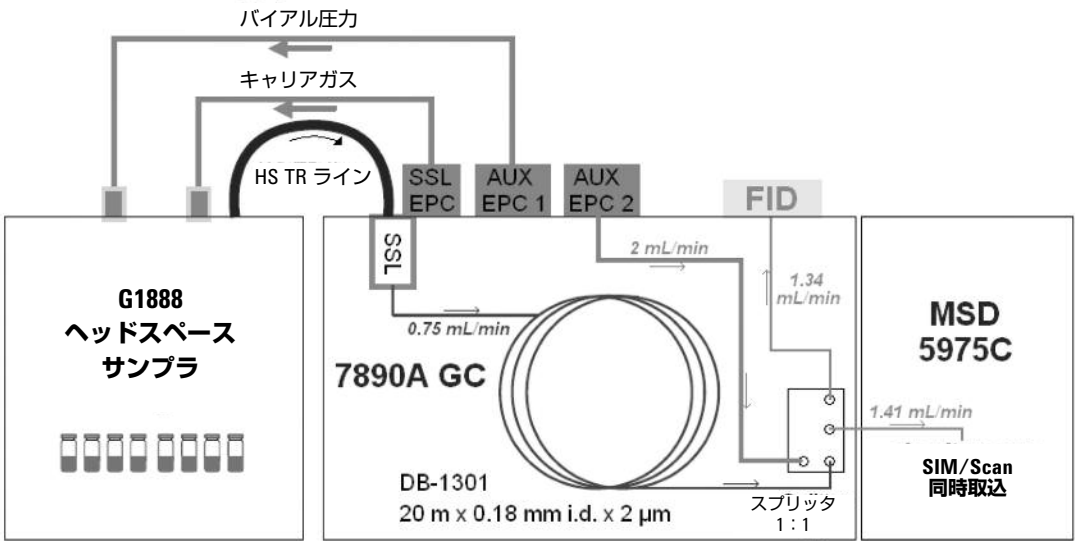

図 1. SHS-GC-FID/MS システムコンフィグレーション

表 1. 分析パラメータ

SHS (G1888 Agilent ヘッドスペースサンプラ)	
ループサイズ：	1 mL
バイアル圧力：	14 psig (96.5 kPa)
ヘッドスペースオーブン：	80 °C
ループ温度：	120 °C
トランスファーライン温度：	120 °C
平衡時間：	10 分、強撹拌
加圧：	0.15 分
ベント (ループフィル)：	0.5 分
平衡時間：	0.1 分
注入：	0.5 分
GC (7890A)	
注入口：	スプリット/スプリットレス、 スプリット 1/10、 ヘッドスペースライナ (P/N 5183-4709)
注入口温度：	250 °C
スプリット比：	1:10
キャリアガス：	ヘリウム
注入口圧力：	160 kPa *
AUX 圧力 (スプリッタ)：	60 kPa
カラム：	DB-1301 20 m × 0.18 mm × 2 µm (J & W)
オーブン：	40 °C (5分) – 5 °C/min – 80 °C – 10 °C/min – 200 °C (2分)
FID：	300 °C、40 mL/min H_2、400 mL/min 空気
MS (5975 C 不活性 XL MSD)	
トランスファーライン：	300 °C
モード：	SIM/Scan同時取込
スキャン範囲：	29 – 250 *m/z*
SIM：	表 2 参照

* リテンションタイムロッキングを適用しました。カラムヘッド圧力を 16.160 分で溶出するトルエンに合わせて調節しました。

表2. SIM パラメータ

グループ	開始時間	イオン
1	0.00	31, 30
2	3.50	31, 43, 45, 59
3	4.60	31, 43, 45, 58, 59, 61, 74, 96
4	5.55	41, 43, 84
5	6.50	57, 61, 73, 96
6	7.25	41, 57, 86
7	7.90	31, 42, 59
8	8.70	30, 43, 61, 72, 96
9	9.65	42, 45, 47, 59, 72, 83
10	10.30	47, 56, 61, 84, 97, 117
11	11.10	43, 45, 49, 61, 62, 74, 76, 78, 90
12	12.02	43, 71
13	12.70	31, 56, 95, 130
14	13.40	55, 83
15	13.90	43, 58, 61, 88
16	14.50	31, 59, 71
17	15.60	41, 43, 52, 55, 58, 73, 79, 91
18	16.75	42, 55, 70
19	17.30	43, 58, 100
20	17.66	43, 56, 73
21	18.20	77, 91, 106, 112
22	20.50	44, 78, 87, 105, 108, 120
23	21.30	44, 98, 99
24	26.00	91, 104, 132

結果と考察

カラム選択

静的ヘッドスペース抽出後の残留溶媒分析には、多くの種類のカラムを使用できます。一般には厚膜の中極性固定相でコーティングされたカラムが使われます。残留溶媒分析に使用される典型的なカラムは、1～3 µm DB-624 (β = 44) でコーティングされた 30 m × 内径 0.53 mm カラムです。このカラムを使えば、約 30 分の分析時間で良好な分離結果が得られます [3]。

本実験では、同等の固定相を備えたナローボア厚膜カラム DB-1301 (G43 に相当) を選択しました。相比が低い (β = 22) ため、メタノール、エタノール、ジエチルエーテル、アセトン、イソプロパノール、アセトニトリルなど、最初に溶出する (しかし頻繁に検出される) 溶媒で優れた分離能が得られます。

約 30 分で 60 種類すべての溶媒を分離できる固定相を見つけるのは不可能です。しかし、ほとんどの実際のケースでは、測定する必要のある溶媒は 3～5 種類程度です。ここで紹介するメソッドでは、56 種類の溶媒を分析できるほか、エチレンオキシドの分析にも同じカラムを使用できます。こうした理由から、本実験のカラム選択および分離条件は汎用的なものと考えられます。

DMSO/水に溶解した溶媒テスト混合液を SHS-GC-FID/MS で分離した結果を図 2 に示しています。濃度は、5 種類のクラス 1 溶媒で 16 ppm、クラス 2 およびクラス 3 溶媒で 560 ppm です。1 回の注入で、3 つのデータファイルが得られました。上段はスキャンモードの MSD で得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC)、中段は対応する SIM データ、下段は FID でのクロマトグラムです。3 つのクロマトグラムすべてでトルエンが 16.16 分で溶出し、FID と MS のリテンションタイムのオフセットは、すべての化合物で 0.03 分 (2 秒) 未満でした。

図 3 では、FID の 3 つの時間幅を抜き出し、分離の詳細を示しています。テトラクロロメタン (10.93 分で溶出)、2-メトキシエタノール (ベンゼン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジクロロエタンと共溶出)、2-エトキシエタノール (14.96 分でトレース)、DMAC (クメンと共溶出)、1-メチル-2-ピロリドン(25.19 分で溶出) を除くすべての化合物が検出され、クロマトグラム上で同定されています。

バリデーション

過去のアプリケーションノートでは [3]、G1888 SHS – 7890A GC の組み合わせで得られた定量データが、G1888 – 6890 GC の組み合わせで得られたデータに匹敵する、あるいはそれよりも優れていることを紹介しました。キャリアガスおよびバイアル圧力の電子圧力制御により、優れた再現性と直線性が得られます。オプションの圧力/流量制御モジュール(PCM)を使えば、背圧制御 (BPR) によりベント圧力をコントロールして、感度を高め (2～4 倍)、相対標準偏差 (RSD) を小さくする (2 分の 1) ことが可能です。本実験では、BPR アプローチを採用しなくても良好な定量データが得られました。BPR を使用すれば、より高い性能が得られるものと考えられます。

複数の検出モードを用いて、検出下限、直線性、再現性を評価しました。再現性については、クラス 1 溶媒は 3 ppm (µg/g、バイアル中 0.15 µg/mL に相当)、それ以外は 100 ppm で確認しました (n = 6)。クラス 1 溶媒については 0.15～15 ppm、その他については 6～600 ppm の範囲で、5 ポイント検量線 (ブランク追加) を測定しました。レスポンスの低い一部の化合物については、500～5,000 ppm の範囲で直線性をテストしました。共溶出する化合物については、FID によるピーク積分を可能にするために、単一化合物溶液を用いて分析を実施しました。分析結果を表 3 にまとめています。

表 3 の 4 列目で、対象化合物に関する共溶出の可能性を示しています。ほとんどの化合物は、同一サンプルに存在する場合でもクロマトグラフィにより分離され、FID または MS のいずれかで定量することができます。一部のケースでは共溶出が観察されています (C と表示)。こうしたケースでも、イオン抽出後の MS、または選択イオンモニタリング (SIM) モードによる定量が可能です。

列 5 から列 8 では、S/N = 3 における最小キャリブレーションレベルから算出した 3 種類の検出モードの検出下限 (LOD) と ICH 許容値を比較しています。ほとんどのケースでは (56 物質中 43 物質)、3 種類すべての検出モードで LOD が ICH 許容値を大きく下回りました。LOD が ICH 許容値を上回ったケースについては、表 3 のなかで太字で示しています。クラス 1 溶媒については、明らかに SIM モードの MS が適しています。一部のクラス 1 溶媒で SIM を使用する利点については、図 4a に示しています。FID でのクロマトグラムからもわかるように、10.6 分で1,1,1-トリクロロエタンがシクロヘキサンと共溶出しています。しかし、1,1,1-トリクロロエタンについては m/e = 97、シクロヘキサンについては m/e = 56 を用いた抽出イオンクロマトグラムにより、いずれの化合物も正確に測定することができます。同様に、FID でのクロマトグラムの 11.5 分でベンゼン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジクロロエタンのピークがオーバーラップした図 4b の例では、ベンゼン m/e = 78、1,2-ジメトキシエタン m/e 45、1,2-ジクロロエタン m/e = 62 のイオンピークが抽出されています (このレベルでは 2-メトキシエタノールは検出されません)。

MS を使用した場合では、2-メトキシエタノールを除くすべての化合物の LOD が ICH 許容値を下回りました。一部の極性化合物 (2-エトキシエタノール、DMF、DMAC、1-メチルピロリドン) でも FID のレスポンスが低くなっていますが、MS 検出下限は満足のいくものでした。以前にも報告したように [3]、ベント圧力の背圧制御により、LOD が 2 分の 1 に改善するものと予想されます。そのため、FID を定量に用いる場合には、この点が重要な考慮事項となります。また、FID で定量する場合には、サンプル量や注入量 (ヘッドスペースサンプルループ量) の増加も効果があるものと考えられます。

SHS-GC-FID/MS メソッドは再現性に優れています。RSD は、GC-FID についても GC/MS (SIM およびスキャン) についても、ほとんどのケースで 5%を下回りました。平均 RSD はスキャンモードで4.4%、SIM モードで3.8%、FID で3.0%でした。ここでも、極性が強い一部の化合物で値が大きくなりました。直線性についても、ほとんどの化合物で良好な結果が得られました。2-メトキシエタノール、2-エトキシエタノール、DMF、DMAC、1-メチル-2-ピロリドン (LOD の高い化合物) 以外の化合物では、3 種類すべての検出モードで良好な直線性が得られました ($R^2 > 0.99$)。

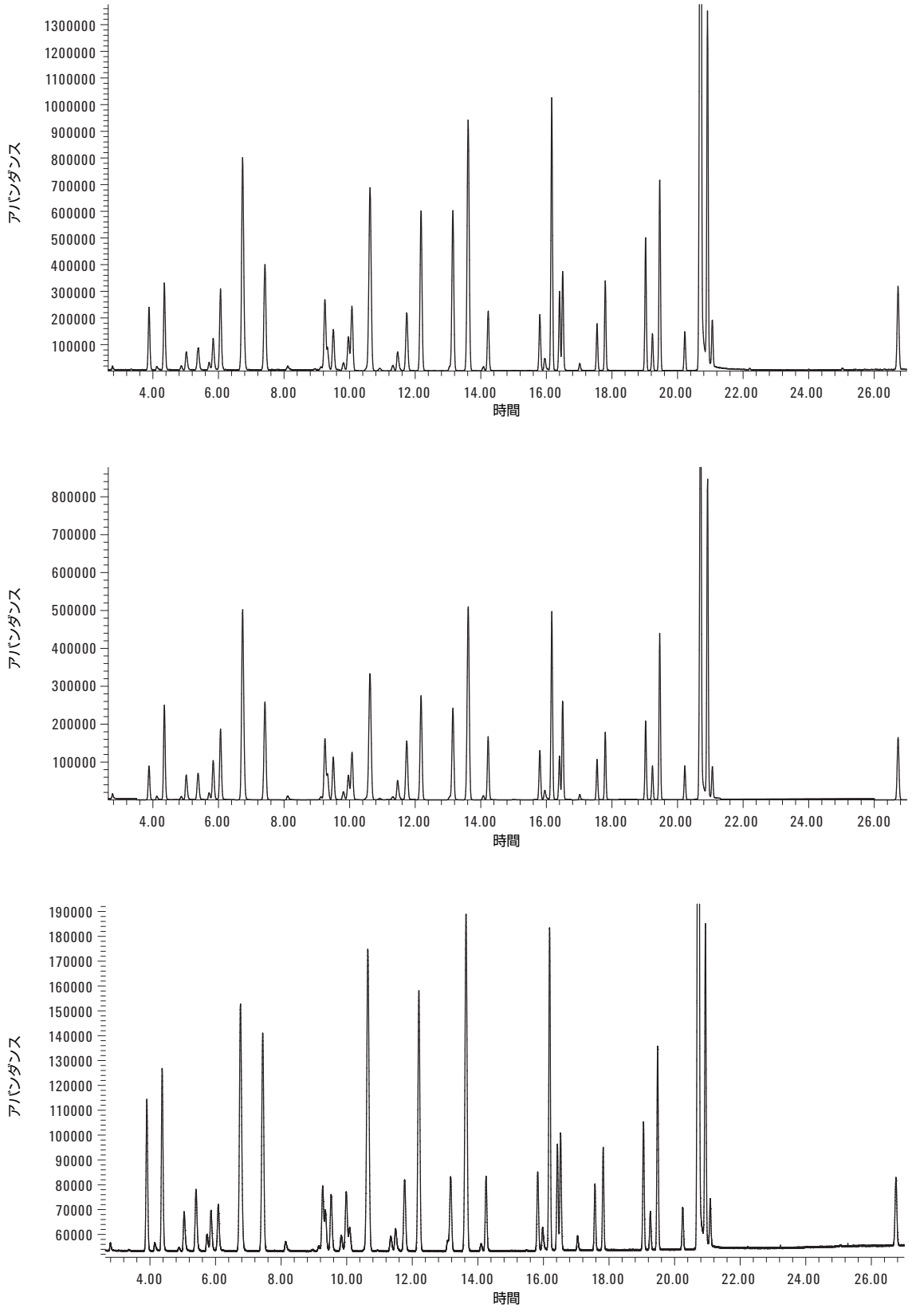

図 2. SHS-GC-FID/MS により得られた 56 種類の溶媒混合液の分析結果

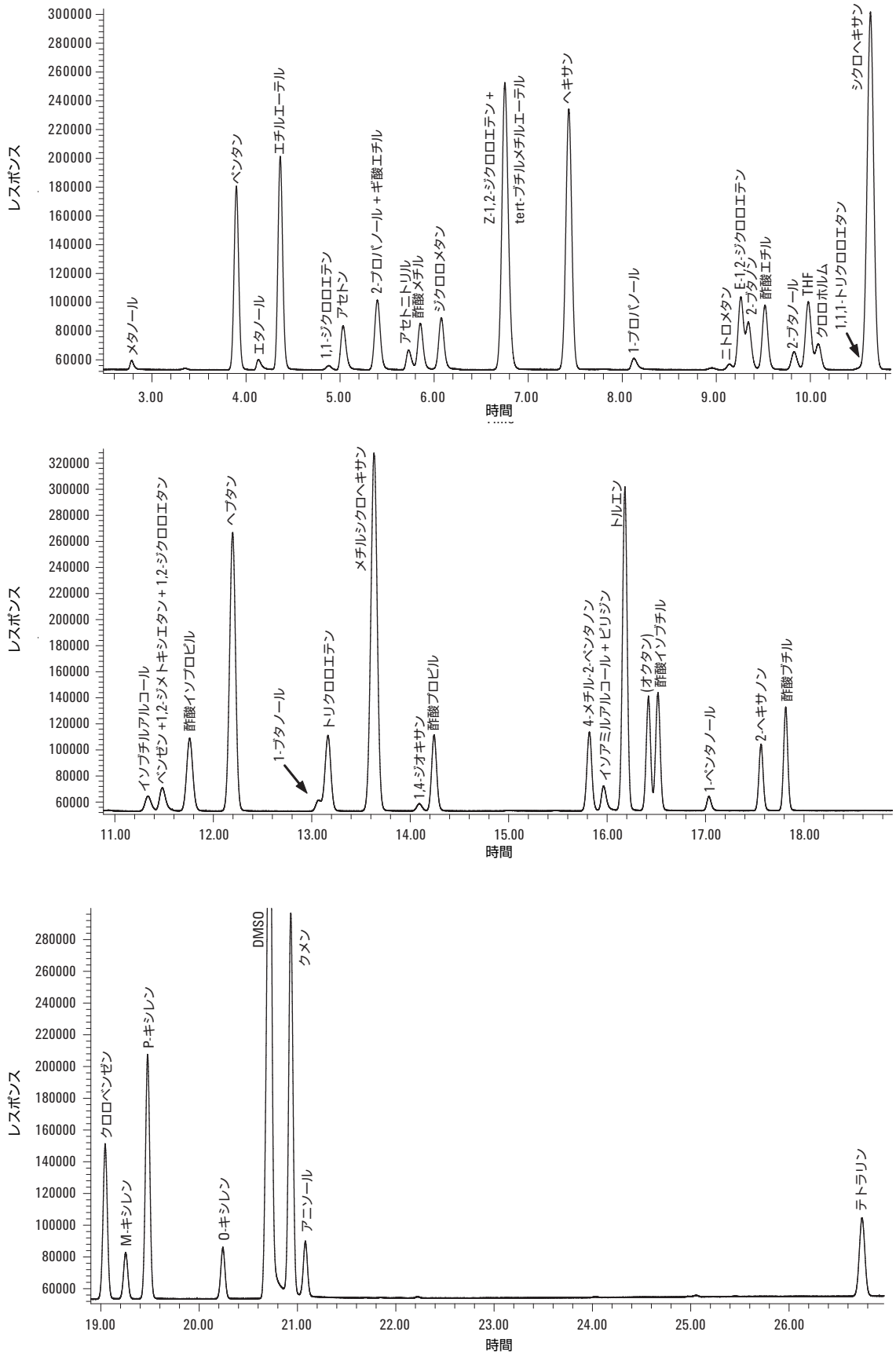

図3. FID クロマトグラムの詳細 (クラス 1 溶媒 16 ppm、クラス 2 およびクラス 3 溶媒 560 ppm)

溶媒の影響

薬剤原料または製剤の溶解に使用する溶媒の影響も評価しました。全般的に見て、水、DMSO、DMAC、DMI、およびそれらの混合液を使用したいずれのケースについても、直線性および再現性という点で、同程度の良好な定量データが得られています。しかし、LOD (および検量線の傾斜) は、使用する溶媒によって異なります。一般に、もっとも低い LOD が得られるのは、極性のあるマトリックス (水) に無極性溶媒を溶解したケースです。(無極性の) クラス 1 溶媒については、静的ヘッドスペースを DMSO/水で実施すると、DMSO のみの場合よりも LOD が 10 倍程度低く (感度が高く) なります。

マトリックスの影響

サンプル溶液中に比較的高い濃度で薬剤原料が存在する場合 (100 mg/2 mL)、化合物の絶対レスポンスに影響が出る可能性があります。本メソッドにおけるこの可能性を評価するために、DMSO/H_2O 溶媒 2 mL に薬剤原料 (プロメタジン) 100 mg を溶解した溶液を用いて、SHS-GC-FID/MS 分析を行いました。ブランク (添加なし) と 2 種類の添加レベル (例えば、クラス 1 溶媒で 3 および 8 ppm、クラス 2 とクラス 3 溶媒で 110 および 280 ppm) を 3 回にわたって分析しました。

再現性 (RSD) と直線性 (R^2) の両方を、医薬品有効成分 (API) を含まない溶液で得た結果と比較しました。全般に、添加サンプルのレスポンスは、API なしで得られたレスポンスの 80～105%でした。この回収率は、微量不純物分析の一般的な許容範囲内に十分に収まっています。

表 3. 56 種類の化合物のバリデーション結果

								RSD			r^2		
								クラス 1: ≈ 3 ppm			クラス 1: 0.15–15 ppm		
	ICH	RT		LOD (ppm、rel. 100 mg API)				Class 2および3: ≈ 100 ppm			Class 2および3: 6–600 ppm		
化合物	クラス	(分)	共溶出[1]	ICH	スキャン	SIM	FID	スキャン	SIM	FID	スキャン	SIM	FID
メタノール	2	2.77	なし	3000	14.2	0.29	132	8.4	3.5	6.0	0.997	0.996	0.999
n-ペンタン	3	3.88	なし	5000	3.3	0.09	6.2	3.7	2.8	1.1	0.994	0.994	0.998
エタノール	3	4.11	なし	5000	18.2	0.80	132	3.6	3.0	8.3	0.995	0.995	0.996
エチルエーテル	3	4.35	なし	5000	1.4	0.06	6.0	3.5	3.5	1.3	0.996	0.995	1.000
1,1-ジクロロエテン	**1**	**4.86**	**なし**	8	1.9	0.02	**7.4**	**15.9**	4.0	7.3	0.992	0.996	0.990
アセトン	3	5.01	なし	5000	4.7	0.13	20.1	4.9	4.0	2.4	0.994	0.995	1.000
2-プロパノール	3	5.37	C	5000	17.0	0.12	230	4.0	3.3	2.2	0.997	0.997	1.000
ギ酸エチル	3	5.38	C	5000	14.1	0.33	27	3.1	3.3	0.8	0.998	0.997	1.000
アセトニトリル	2	5.71	なし	410	11.1	0.46	73	4.1	3.5	4.2	0.995	0.996	0.999
酢酸メチル	3	5.84	なし	5000	2.8	0.16	40	2.5	3.8	2.8	0.997	0.997	1.000
ジクロロメタン	2	6.06	なし	600	1.7	0.06	24	4.6	4.0	2.4	0.997	0.996	0.999
Z-1,2-ジクロロエテン	2	6.74	C	1870	0.9	0.01	9.0	4.1	4.0	1.3	0.996	0.996	1.000
t-ブチルメチルエーテル	3	6.73	C	5000	2.4	0.02	7.5	3.2	3.3	1.4	0.996	0.996	1.000
n-ヘキサン	2	7.42	なし	290	1.2	0.03	4.4	2.5	3.2	0.9	0.994	0.994	0.999
1-プロパノール	3	8.11	なし	5000	23	0.45	126	6.6	3.6	9.1	0.995	0.995	0.998
ニトロメタン	2	9.13	なし	50	104	1.0	214	7.8	1.5	**11.3**	0.995	0.997	0.992
E -1,2-ジクロロエテン	2	9.24	部分的	1870	3.9	0.09	16	4.0	4.0	2.6	0.997	0.996	1.000
2-ブタノン	3	9.33	部分的	5000	11.1	0.32	40	3.3	3.4	3.1	0.997	0.997	0.999
酢酸エチル	3	9.50	なし	5000	12.4	0.5	19.1	3.4	4.3	3.8	0.997	0.997	0.999
2-ブタノール	3	9.82	なし	5000	18.4	1.6	64	7.0	3.9	2.0	0.993	0.995	0.999

表3. 56 種類の化合物のバリデーション結果 (続き)

								RSD			r^2		
								クラス 1: ≈ 3 ppm			クラス 1: 0.15–15 ppm		
	ICH	RT		LOD (ppm、rel. 100 mg API)				Class 2および3: ≈ 100 ppm			Class 2および3: 6–600 ppm		
化合物	クラス	(分)	共溶出[1]	ICH	スキャン	SIM	FID	スキャン	SIM	FID	スキャン	SIM	FID
THF	3	9.96	No	5000	3.5	0.22	20	3.3	3.6	3.0	0.998	0.997	1.000
クロロホルム	2	10.07	Partial	60	1.6	0.04	34	3.0	3.7	3.8	0.998	0.997	0.995
1,1,1-トリクロロエタン	**1**	**10.51**	**C**	1500	2.1	0.03	18.8	4.7	3.3	6.0	0.997	0.997	0.993
シクロヘキサン	2	10.62	C	3880	1.9	0.03	2.90	3.3	3.5	1.0	0.995	0.996	1.000
テトラクロロメタン	**1**	**10.93**	**なし**	4	0.71	0.04	**45**	5.7	3.3	6.0 [2]	0.998	0.997	0.994[3]
イソブチルアルコール	3	11.32	なし	5000	18	1.7	64	4.9	3.2	7.3	0.998	0.996	0.998
ベンゼン	**1**	**11.48**	**C**	2	0.70	0.02	**4.8**	6.2	3.5	2.4	0.994	0.997	1.000
2-メトキシエタノール	2	11.48	C	50	**835**	**248**	**2650**	**20** [2]	9.5 [2]	**16** [2]	1 point	**0.988**[3]	**0.868**[3]
1,2-ジメトキシエタン	2	11.46	C	100	13.2	< 3.5	65	4.5	3.2	5.5	0.995	0.995	0.999
1,2-ジクロロエタン	**1**	**11.54**	**C**	5	**8.2**	0.70	**30**	2.3 [2]	4.0	1.6 [2]	0.999[3]	0.997	0.999[3]
酢酸イソプロピル	3	11.74	なし	5000	1.4	0.07	13.5	3.2	4.3	1.3	0.996	0.997	1.000
n-ヘプタン	3	12.18	なし	5000	1.3	0.06	3.5	3.3	3.6	1.8	0.995	0.995	0.999
1-ブタノール	3	13.05	C	5000	21.1	1.1	178	6.9	5.1	1.1	0.994	0.996	1.000
トリクロロエテン	2	13.15	C	80	1.2	0.03	16	3.3	4.0	1.6	0.998	0.996	0.999
メチルシクロヘキサン	2	13.61	なし	1180	0.6	0.02	3.8	3.7	3.8	1.1	0.996	0.996	1.000
1,4-ジオキサン	2	14.08	なし	380	30	0.41	141	3.5	3.5	4.4	0.992	0.997	0.994
酢酸プロピル	3	14.22	なし	5000	1.3	0.20	16.2	3.6	3.9	1.8	0.997	0.997	1.000
2-エトキシエタノール	2	14.96	なし	160	**576**	115	**1000**	5.0 [2]	**14.1**	3.0 [2]	**0.977**[3]	**0.956**	**0.989**[3]
4-メチル-2-ペンタノン	3	15.80	なし	5000	5.8	0.16	11.9	3.0	3.3	0.9	0.996	0.997	1.000
イソアミルアルコール	3	15.94	なし	5000	73	1.6	76	5.6	4.3	3.6	0.995	0.996	0.999
ピリジン	2	15.95	なし	200	46	3.1	63	3.7	3.3	4.3	0.993	0.995	0.999
トルエン	2	16.16	なし	890	0.4	0.02	3.6	4.2	3.9	1.1	0.997	0.997	1.000
イソブチル	3	16.50	なし	5000	5.4	0.44	10.1	3.4	4.1	0.9	0.997	0.997	0.999
1-ペンタノール	3	17.01	なし	5000	19.3	0.94	84	4.1	3.9	4.5	0.995	0.995	0.998
2-ヘキサノン	2	17.55	なし	50	1.8	0.10	15.0	2.1	3.4	1.0	0.997	0.997	1.000
n-酢酸ブチル	3	17.80	なし	5000	0.9	0.08	12.0	4.2	3.6	0.8	0.997	0.997	0.999
DMF	2	18.59	なし	880	**962**	192	**2885**	**12.2** [2]	**10.9** [2]	**17.8** [2]	**0.970**[3]	**0.977**[3]	**0.937**[3]
クロロベンゼン	2	19.03	なし	360	0.7	0.03	8.5	3.5	3.9	1.3	0.996	0.996	0.998
キシレン	2	19.23	なし	2170	2.2	0.15	29	4.6	3.8	2.2	0.996	0.997	0.999
キシレン	2	19.45	なし	2170	0.5	0.03	5.9	3.8	3.8	1.2	0.997	0.997	0.999
キシレン	2	20.22	なし	2170	2.4	0.16	25	3.7	3.8	2.7	0.997	0.996	0.999
DMAC	2	20.92	C	1090	154	18.8	**3200**	**20** [2]	**17.3** [2]	**19.5** [2]	**0.914**[3]	**0.921**[3]	**0.935**[3]
クメン	3	20.92	C	5000	0.2	0.03	< 1	4.0	3.7	1.8	0.997	0.997	0.999
アニソール	3	21.07	なし	5000	2.7	0.13	< 1	2.7	3.3	1.5	0.995	0.997	0.998
1-メチル-2-ピロリドン	2	25.19	なし	4840	**6150**	117	**6150**	**ND**[2]	**12.1** [2]	**ND**[2]	1ポイント	**0.972**[3]	1ポイント
テトラリン	2	26.72	なし	100	1.7	0.12	12.5	4.2	3.5	1.3	0.995	0.992	0.997

ND = 検出されず

[1] C = 共溶出、ただし MS により分解；部分的 = 部分的にオーバーラップ

[2] 2,500 ppm で計算

[3] 500～5,000 ppm の範囲で計算

アプリケーション

入手可能な多くの薬剤原料に本メソッドを適用しました。ペニシリン V およびレバミゾール (テトラミゾール) サンプルを分析したところ、微量の残留溶媒が検出されました。図 5 および 6 に、これら 2 つのサンプル (各サンプルとも、2 mL DMSO/水 1:1 にサンプル 100 mg を溶解) の FID クロマトグラムを示しています。ペニシリンサンプル (図5) では、微量の n-酢酸ブチルが検出されました。外部標準により測定した濃度は 52 ppm でした。この数字は、ICH 許容値 (5,000 ppm) を大きく下回っています。レバミゾールサンプル (図6) では、微量のトルエンが検出されました。濃度は 66 ppm で、ICH 許容値の 890 ppm を大きく下回っています。注目すべきは、どちらのクロマトグラムでも微量の硫化ジメチルが検出されている点です。DMS は、サンプルの溶解に用いた DMSO 溶媒に含まれる不純物です。また、レバミゾールでは「未知」の物質が検出されました。MS スペクトルライブラリ検索により、このピークは 2-クロロプロパンと同定されました。この溶媒は ICH 溶媒リストには含まれていません。しかし、このようにサンプル中の未知物質を同定できたことは、MS 同時検出の利点をはっきりと示しています。

溶媒バックフラッシュ

分析サイクル時間とデータ品質を向上する手段として、キャピラリカラムでのバックフラッシュがルーチン分析に導入されるようになってきました。残留溶媒分析におけるバックフラッシュ導入のシンプルさと利点を評価しました。カラム出口圧を高く (AUX 圧力制御パージ付きスプリッタ)、注入口圧力を低くして、溶出の遅い溶媒 (DMSO および DMAC) をバックフラッシュすれば、分析時間を短縮できます。これを図 7A から 7C までで示しています。通常の溶媒混合液分析では、DMSO は 20.8 分で溶出しますが、サンプル成分が次回の分析に残らないように、標準物質分析は 200 °C まで昇温が継続されます。DMSO の後に分析対象化合物が溶出しない場合は、バックフラッシュによりサイクル時間を短縮することが可能です。図 7B は図7A と同じ分析ですが、20 分 (DMSO 溶出直前) にバックフラッシュを開始している点だけが異なります。出口圧を 60 kPa から 200 kPa に上昇させ、GC を 150 °C で 10 分間維持しました。バックフラッシュ開始後にはピークは観察されていません。次に、ブランク分析 (バックフラッシュなし、オリジナルメソッド) を実施しました (図7C)。DMSO 溶媒が完全に除去されていることが明らかに示されています。バックフラッシュは、FID および MSD のパージ付きスプリッタを用いることにより、きわめてシンプルに実現することができます。カラムへの熱的ストレスが明らかに減少し (カラムの長寿命化が期待でき)、本来の終了温度である 200 °C ではなく 150 °C から冷却時間が始まることで、分析が高速化します。バックフラッシュ時間を短縮し、DMSO の完全なバックフラッシュに必要な最小限の時間に設定すれば、さらなるサイクル時間の短縮が可能です。

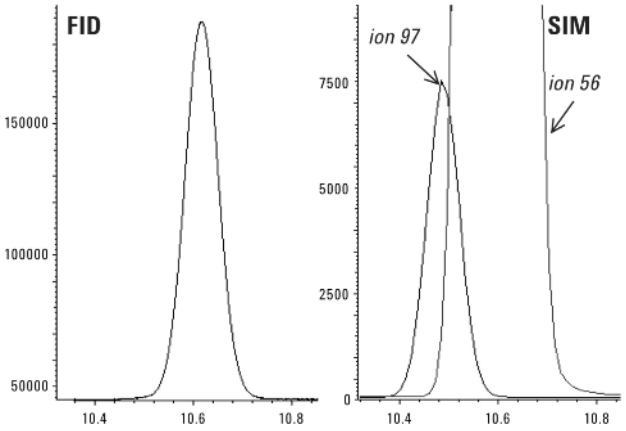

図4a. 1,1,1-トリクロロエタン (m/e = 97) とシクロヘキサン (m/e = 56) のオーバーラップした FID ピークと各 SIM イオンクロマトグラムのピークの比較

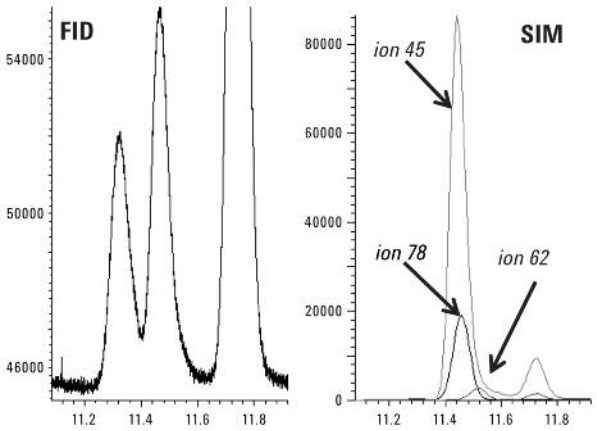

図4b. ベンゼン (m/e = 78)、ジメトキシエタン (m/e = 45)、1,2-ジクロロエタン (m/e = 62) のオーバーラップした FID ピークと各 SIM イオンクロマトグラムのピークの比較

結論

静的ヘッドスペース GC-FID/MS コンフィグレーションを使用すれば、1 回の分析で 50 種類以上の医薬品残留溶媒を測定することが可能です。FID を用いれば、ほとんどの分析対象化合物のルーチン定量分析が可能です。その一方で、MS はクラス 1 溶媒の微量測定や未知物質の同定に適しています。抽出イオンおよび SIM イオンクロマトグラムを使用できる MS 分析は、共溶出ピークの測定にも優れた性能を発揮します。そのため、異なるカラムで追加の分析を行う必要がありません。再現性、直線性、LOD といった定量データはきわめて良好で、ICH ガイドラインを満たしています。一部のケースではガイドラインよりも優れた結果が得られました。

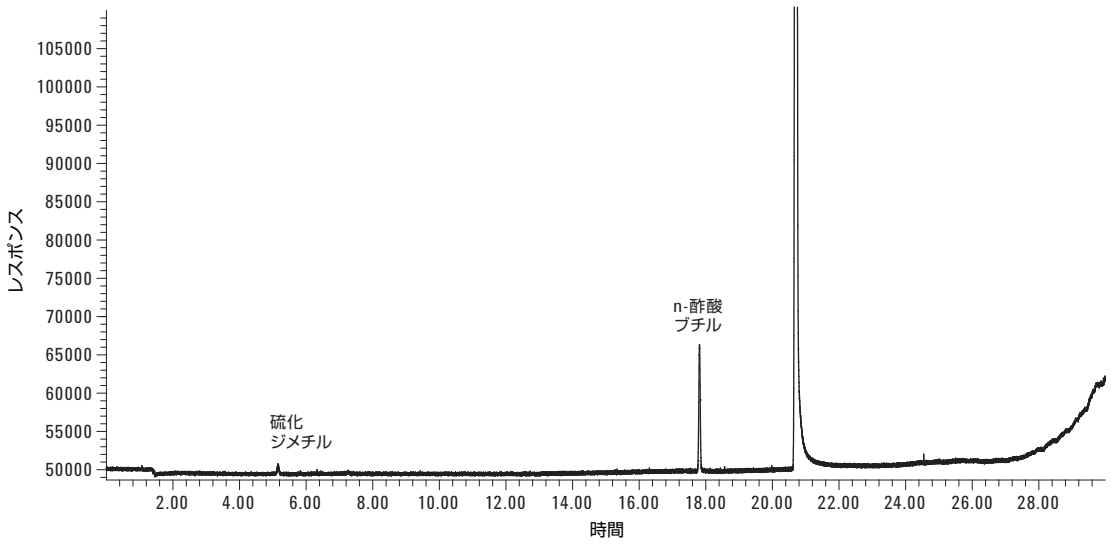

図 5. 市販ペニシリンサンプルの分析。52 ppm の n-酢酸ブチルが検出されました。この数値は ICH 許容値の 5,000 ppm を大きく下回っています。

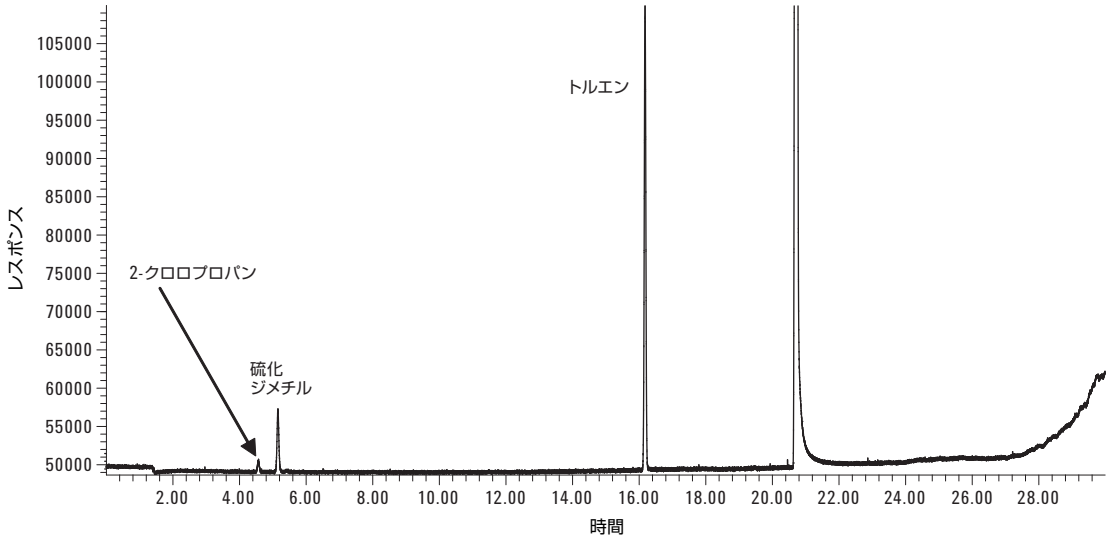

図 6. レバミゾールサンプルの分析。66 ppm のトルエンが検出されました。この数値は ICH 許容値の 890 ppm を大きく下回っています。

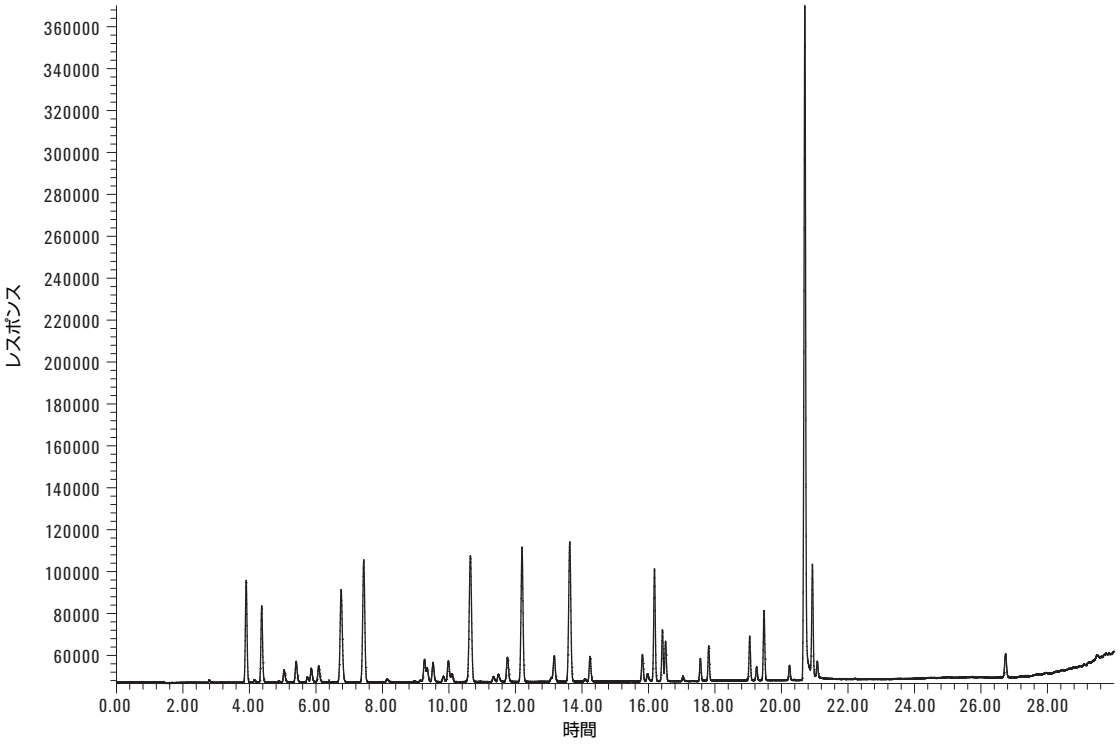

図 7A. バックフラッシュなしの標準物質分析

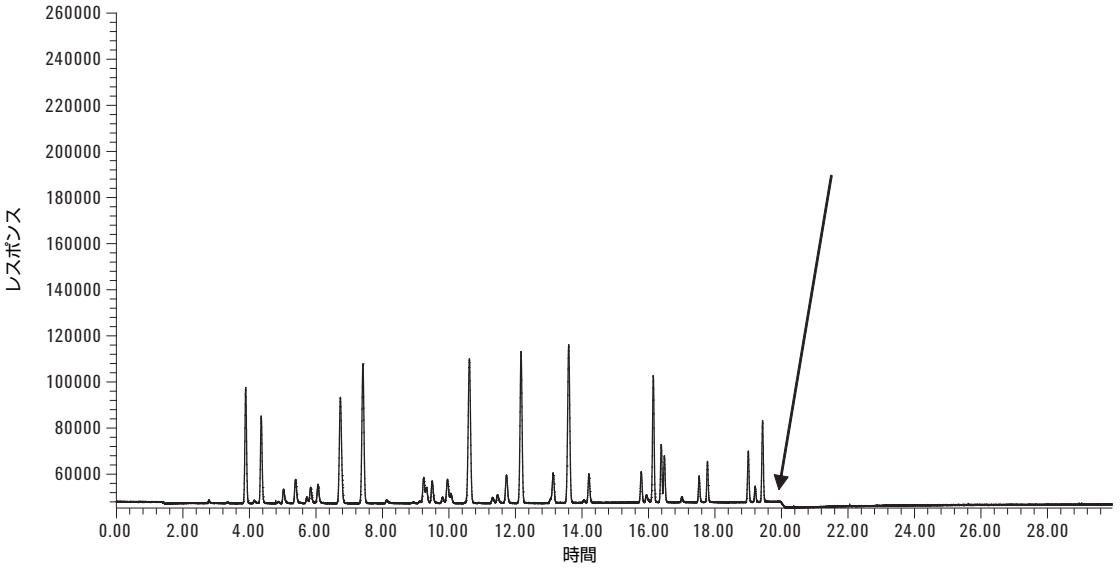

図 7B. 20 分 (DMSO 溶出直前) でバックフラッシュを開始した標準物質分析

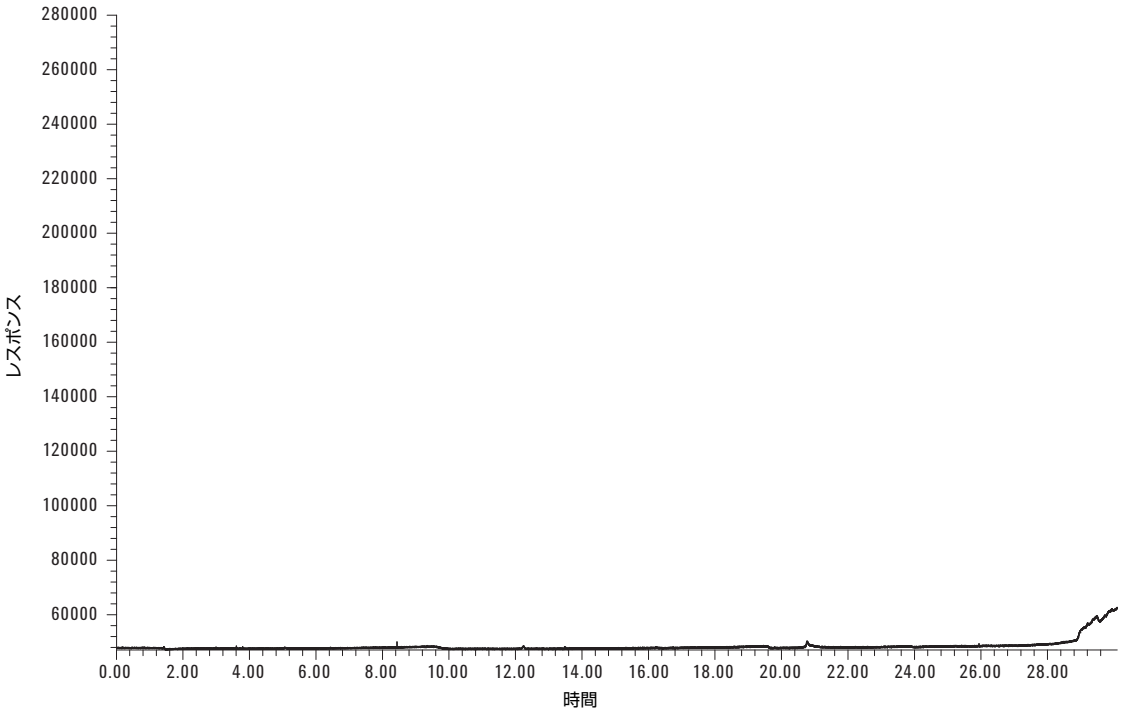

図 7C. バックフラッシュ分析後のブランク分析では、DMSO がバックフラッシュにより完全に除去されたことが示されています。

参考文献

1. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Q3C(R3), http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA423.pdf
2. R. L. Firor, “G1888 ネットワークヘッドスペースサンプラを用いた医薬品中の残留溶媒測定” 資料番号 5989-1263JAJP, 2004.
3. A. E. Gudat, R. L. Firor, and U. Bober, “Better Precision, Sensitivity, and Higher Sample Throughput for the Analysis of Residual Solvents in Pharmaceuticals Using the Agilent 7890A GC System with G1888 Headspace Sampler in Drug Quality Control,” Agilent Technologies publication 5989-6023EN, 2007.
4. R. L. Firor and A. E. Gudat, “G1888 ヘッドスペース/6890N GC/5975 inert MSD システムを使用した医薬品残留溶媒の定量”、資料番号 5989-3196JAJP, 2005.
5. A. E. Gudat and R. L. Firor, “The Determination of Extractables and Leachables in Pharmaceutical Packaging Materials Using Headspace/GC/MS,” Agilent Technologies publication 5989-5494EN, 2006.

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2008
Printed in Japan
September 18, 2008
5989-9726JAJP

Agilent Technologies